

〈原著〉

生ナガイモの経口摂取がマウスの肝臓における遺伝子発現に 及ぼす影響：DNA マイクロアレイ分析

山 崎 民 子（帯広大谷短期大学）

得 字 圭 彦（帯広畜産大学 食品科学研究部門）

佐 藤 真由美（北海道立総合研究機構 林産試験場）

川 原 美 香（北海道立十勝圏地域食品加工技術センター）

大 庭 潔（北海道立十勝圏地域食品加工技術センター）

木 下 幹 朗（帯広畜産大学 食品科学研究部門）

大 西 正 男（藤女子大学 人間生活学部 食物栄養学科）

AIN-93G 飼料組成のうちコーンスターチの 50%を生ナガイモ凍結乾燥物で置き換えた飼料を 4 週間与えた正常マウスにおける肝臓での遺伝子発現パターンの変動を DNA マイクロアレイによって網羅的に分析した。先にヤマイモの食品機能性のひとつとして免疫賦活作用が報告されているが、ナガイモの摂取による、それに関連した遺伝子発現変動として Fc 受容体をコードする遺伝子の中で *Fcer1g* と *Fcgr2b* の発現が増加した。また、MHC クラス I と II 経路での抗原プロセッシングと抗原提示に関わる遺伝子群が発現増加することが示された。異物代謝では、第 II 相の glutathione S-transferase 遺伝子群の発現が高まった。このことは、ナガイモの摂取によって発がん物質などの有害物質を水溶性化合物に転換して体外に排泄する解毒酵素系が亢進されることを推測させる。糖質や脂質の代謝系に関わる遺伝子群については、コントロール食（ナガイモ非添加食）群との間で発現パターンには違いが認められなかった。

キーワード：ナガイモ、食品機能性、DNA マイクロアレイ、免疫調節、異物代謝

1. はじめに

近年、糖尿病、がんなどの生活習慣病やアレルギー性疾患の罹病者が増加している。生活習慣病の発症や免疫系の維持・向上には食生活が深く関係することから、その予防や症状の改善効果を期待した食品の機能性に注目が集まっている。北海道十勝地方の代表的な農産物の一つであるナガイモ (*Dioscorea opposita* Thunb.) は、古来より不老長寿の食べ物として知られているが、健康機能性に関する研究は他のヤマイモ類（ヤマノイモ属のうち食用種の総称）と比べて多くない¹⁻⁴⁾。先に著者らは、北海道産ナガイモの栄養成分やスーパーオキシドアニオン消去活性などを分析するとともに⁵⁾、1,2-ジメチルヒドラジン投与マウスにおけ

る食餌性ナガイモの大腸腺腫発症抑制効果、並びにナガイモから調製した不ケン化物のヒト結腸がん細胞に対する増殖抑制作用について報告している^{2),6),7)}。食品機能性の評価では、*in vivo* における科学的有効性とその作用機序を明らかにすることが求められるが、ナガイモの食品機能性を遺伝子レベルで詳細に検討した報告は少ない。ナガイモを含めたヤマイモ類は健康維持や病気予防につながる多様な生理機能を持つことから⁸⁾、ナガイモの摂取も直接的または間接的に生体内で多くの遺伝子の発現に影響を与えられられる。

DNA マイクロアレイ法は遺伝子の発現変動を網羅的に解析する手法で、食品を摂取したときの遺伝子発現パターンを調べることで、様々な代謝やシグナル伝達の変動を網羅的に把握することができる。その

ため、既知の生理作用のメカニズム解明や新たな機能性の探索するのに効率的であるといわれている⁹⁾。著者らも農産物とその加工副産物の高付加価値化を目指し、それらの経口摂取によって期待できる健康機能性を DNA マイクロアレイ法によって評価している¹⁰⁻¹³⁾。また、DNA マイクロアレイ解析は食品や食品成分の安全性評価法としても利用できることが知られている^{14),15)}。

本研究では、DNA マイクロアレイ法を用いて、生ナガイモを 4 週間摂食させた正常マウスの肝臓での遺伝子発現パターンの変動を分析してナガイモの有する健康機能性を探索しようとした。

2. 実験方法

(1) 実験材料

ナガイモ (*D. opposita* Thunb.) は、前報と同様に²⁾、市販の北海道帯広市川西産のものを洗い、洗浄した後、可食部をスライスしてから凍結乾燥した。これを粉碎処理して生ナガイモ粉を得た。

(2) 実験動物と餌組成

BALB/c マウス (4 週齢のオス) を日本クレアから購入し、室温 $24 \pm 3^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $55 \pm 15\%$ 、12 時間明暗サイクル (明期 7:00–19:00) に調節された部屋で、市販固形飼料 (F2、船橋農場製) で 1 週間飼育した後、試験飼料に切り替えた。試験食飼料として、AIN-93G 組成飼料を与えた群をコントロール食群とし、AIN-93G 組成飼料のうちコーンスターチの 50% を生ナガイモ凍結乾燥物 (粉末) に置き換えた飼料 (ナガイモ 20% 添加) を与えた群をナガイモ食群とした²⁾。両群のマウス (5 匹ずつ) を明期と暗期それぞれ 12 時間サイクルで飼育し、水と飼料は自由摂取とした。4 週間試験食で飼育した正常マウスを 24 時間絶食させた後、エーテル麻酔してから心臓からの採血を行い、その後直ちに肝臓を摘出した。肝臓は RNA の抽出までの間、RNA later (Ambion, Inc., Austin, TX) に浸漬し -80°C で保存した。

(3) DNA マイクロアレイ解析

肝臓から SV Total RNA Isolation System (Promega Corp. 製) を使用して総 RNA を抽出・精製した。260 nm と 280 nm の吸光度および電気泳動により RNA の品質と濃度を確認した後、各群の 5 匹のマウスの総 RNA から等量ずつプールしたものをアレイ解析の試料として用いた。

ビオチンで標識された cRNA は、CodeLink Assay

Reagent Kit (GE Healthcare 製) を用いて合成した。即ち、精製した $2\mu\text{g}$ の総 RNA から逆転写と 2nd strand 合成を行って double-strand cDNA を鋳型として biotin-11-UTP (Perkin Elmer 製) の存在下で *in vitro* 転写反応を行ってビオチン標識 cRNA を合成した¹¹⁾。ビオチン化した cRNA $10\mu\text{g}$ を Expression Assay Reagent Kit のプロトコールに従ってハイブリゼーションバッファーで希釈し、CodeLink Mouse Uniset 20k Bioarray (約 20,000 の遺伝子を搭載、GE Healthcare 製) に対してハイブリダイズさせた。このアレイを洗浄後、Cy5-スレプトアビジンで染色してから arrayWoRx[®] Scanner (Applied Precision 製) でスキャンし、検出されたシグナルは CodeLink Expression Analysis v4.0 software (GE Healthcare 製) で処理してバックグラウンド補正と数値化を行った¹¹⁾。

また、マイクロアレイデータの Gene Spring GX 7.3.1 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) を使用し、グローバルノーマライゼーション (per-chip および per-gene) により標準化した。データの比較解析は、“present flag” のプローブを対象とし、それらのシグナルレベルがコントロール群に比べて 1.5 倍以上増加、または減少したプローブを選択した。次いで、これらのプローブ群の ID を、The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery (DAVID) v6.7 (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) の functional clustering に入力し、Gene Ontology (GO) biological function のアノテーションを基にした遺伝子の機能別の分類とクラスタリングを行った。なお、クラスタリングのパラメーターは Classification Stringency を High に設定して $p < 0.05$ のものを抽出した。パスウェイ解析は、KEGG pathway database (<http://www.kegg.jp/ja/>) のアノテーションを用いて行った。

3. 実験結果

(1) 肝臓で発現変動した遺伝子と機能クラスタリング

生ナガイモ凍結乾燥パウダーの摂取はマウスの体重や摂食量には影響を与えなかった。肝臓の DNA マイクロアレイ解析を行った結果、コントロール食群と比べてナガイモ食群で発現量が 1.5 倍以上に増加した遺伝子数は 506 個で、0.6 倍以下に減少した遺伝子は 259 個であった。これらの発現変動を示した遺伝子を DAVID で機能別クラスター解析したところ、免疫系に関連する GO カテゴリー ($p < 0.05$) 中に発現変動した遺伝子が多く含まれていた (Table 1)。

Table 1 Functional annotation clustering of genes whose expression levels were altered (<0.66- or >1.5-fold) by raw *nagaimo* intake

GO number	GO term (biological process)	Number of altered genes*		P-Value
		up	down	
GO:0006959	immune response	31	—	3.6E-4
GO:0009611	response to wounding	20	3	2.2E-3
GO:0006954	inflammatory response	16	2	1.1E-3
GO:0048002	antigen processing and presentation of peptide antigen	7	—	8.3E-4
GO:0002495	antigen processing and presentation of peptide antigen	6	—	1.2E-4
GO:0001817	regulation of cytokine production	8	2	3.8E-2
GO:0019291	cytokine-mediated signaling pathway	4	2	3.8E-2

*The number of genes up- and down-regulated by raw *nagaimo* belonging to the GO category.

(2) 免疫系に関わる遺伝子発現パターン

免疫系に関わる遺伝子群の中でコントロール食群と比べて発現変動が見られたものを調べてみると (Table 2)、抗体のFc部位を受容して免疫を活性化するFc受容体をコードする遺伝子¹⁶⁾の中で *Fcer1g* と *Fcgr2b* の発現が増加していた。また、主要組織適合性複合体 (major histocompatibility complex、以下、MHC と記す) クラスII遺伝子の転写を制御する Regulatory factor X-associated protein (*Rfxap*)、およびその下流に位置する *Ii* (invariant chain) 遺伝子^{17),18)} の発現レベルがそれぞれ 1.59 倍と 3.15 倍に上昇していた (Fig. 1)。invariant chain は MHC クラスII分子の生合成経路において、小胞体内へ入ってくるペプチドや、細胞自身が新たに産生したペプチドが MHC クラスII分子に結合するのを防ぐ役目を担っている¹⁸⁾。MHC クラスII分子をコードする遺伝子である *H2-Aa*、*H2-Ea* および *H2-Eb1*¹⁹⁾ はコントロール群と比較していずれも 1.5 倍以上に発現上昇していた (Fig. 1)。また、MHC クラスII分子に拘束された抗原

プロセッシングにおいて重要な役割を果たす *Ifi30* (interferon gamma inducible protein 30, gamma-interferon-inducible lysosomal thiol reductase)²⁰⁾ も発現レベルが 2.12 倍に上昇していた。

MHC クラスI経路²¹⁾ では、インターフェロン γ によって強く誘導される *Psme2* [proteasome (prosome, macropain) 28 subunit, beta, 1.86 倍]²²⁾ と MHC クラスI分子をコードする *H2-Q1* (histocompatibility 2, Q region locus 1, 1.54 倍)²³⁾ が発現増加していた。一方、heat shock protein 70 (HSP70) family のメンバーに属する *Hspa5* [GRP78 (免疫グロブリン重鎖結合タンパク質)]²⁴⁾ は僅かに発現減少していた。

また、白血球の走化性に関わるケモカイン類(CC と CXC ファミリー) をコードする遺伝子群²⁵⁾ を検討したところ、Table 3 に示した多くの関連遺伝子が発現誘導することが確認された。この発現変動から、ナガイモ摂取によって生体防御に必要な白血球の組織浸潤が促進されると推測できる。

Table 2 Expression change (vs. control group) of hepatic genes involved in immune system development by raw *nagaimo* intake

Gene symbol	Gene name	Fold change
<i>Fcer1g</i>	Fc receptor, IgE, high affinity I, gamma polypeptide	2.07
<i>Fcgr2b</i>	Fc receptor, IgE, low affinity Iib	1.65
<i>H2-Aa</i>	Histocompatibility 2, class II antigen A, alpha	1.91
<i>H2-Ea</i>	Bactrianus MHC class II antigen H-2E alpha precursor	1.60
<i>H2-Eb1</i>	Histocompatibility 2, class II antigen E beta	2.47
<i>H2-Q1</i>	Histocompatibility 2, Q region locus 1	1.54
<i>Hspa5</i>	Heat shock 70kDa protein 5 (glucose-regulated protein)	0.45
<i>Ifi30</i>	Interferon gamma inducible protein 30	2.12
<i>Ii</i>	Ia-antigen associated invariant chain	3.15
<i>Psme2</i>	Protease (prosome, macropain) 28 subunit, beta, b	1.86
<i>Rfxap</i>	Regulatory factor X-associated protein	1.59

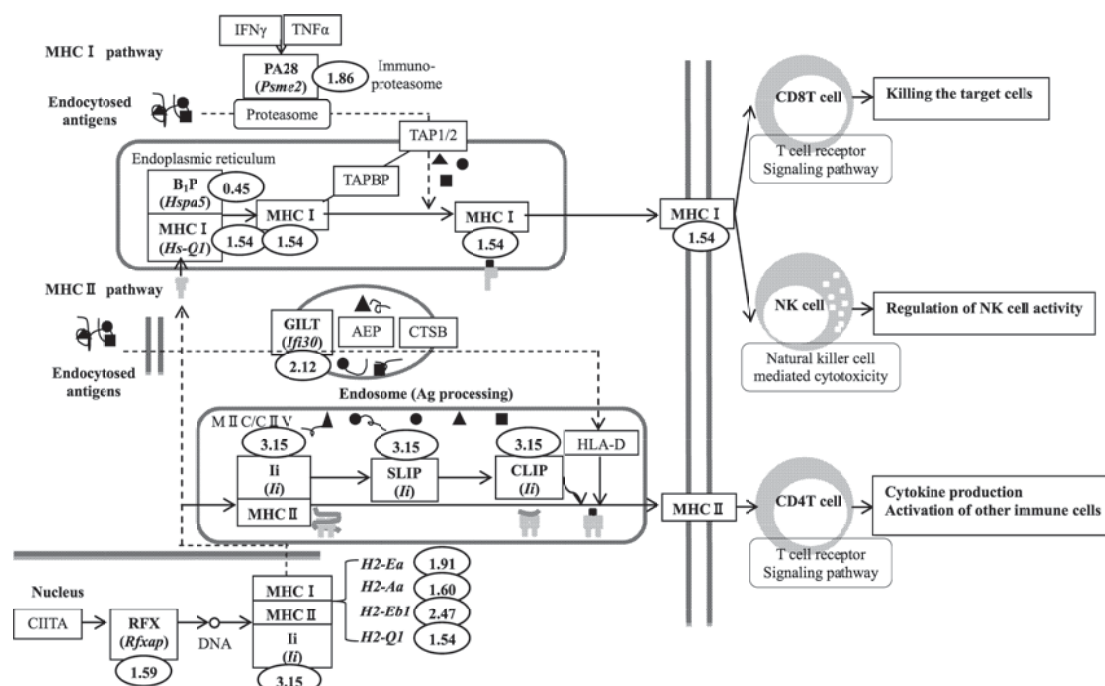


Fig. 1 Gene expression level involved in antigen processing and presentation by MHC I and II pathways induced by dietary intake of raw *nagaimo*.

This figure is drawn by the speculation based only on gene expression data. The numeral in each ellipse shows the fold change of enhanced gene expression.

Table 3 Expression change (vs. control group) of hepatic genes related to chemotaxis by raw *nagaimo* intake

Gene symbol	Gene name	Fold change
<i>Ccl19</i>	Chemokine (C-C motif) ligand 19	1.54
<i>Ccl21b</i>	Chemokine (C-C motif) ligand 21b	1.64
<i>Ccl25</i>	Chemokine (C-C motif) ligand 25	1.67
<i>Ccl5</i>	Chemokine (C-C motif) ligand 5	3.12
<i>Cklf</i>	Chemokine like factor, transcript variant 2	1.72
<i>Cxcl10</i>	Chemokine (C-X-C motif) ligand 10	1.53
<i>Cxcl12</i>	Chemokine (C-X-C motif) ligand 12, transcript variant 1	1.77
<i>Cxcl16</i>	Chemokine (C-X-C motif) ligand 16	1.52
<i>Cxcl4</i>	Chemokine (C-X-C motif) ligand 4	1.92
<i>Il1b</i>	Interleukin 1 beta	1.74
<i>Rac2</i>	RAS-related C3 botulinum substrate 2	1.79
<i>S100a8</i>	S100 calcium binding protein A8 (calgranulin A)	1.78
<i>Xcl1</i>	Chemokine (C motif) ligand 1	1.88

(3) 異物代謝関連遺伝子の発現パターン

コントロール食群と比べて発現変動した異物代謝に関わる遺伝子群を Table 4 に示す。異物代謝第 I 相酵素群のうち²⁶⁾、酸化反応に関わるシトクローム P450 ファミリーの *Cyp2c38*、*Cyp2c39* および *Cyp2b9* が 1.5 倍以上に発現が上昇していた。第 II 相酵素群では²⁷⁾、水溶性原子団を付加する反応の中でグルタチオン抱合体を形成する glutathione S-transferase のうち、*Gstm3*、*Gsto2*、*Gstk1*、*Gsta4* および *Gsta2* の発

現上昇が観察された。一方、グルクロン酸抱合体の形成に関与する UDP グルクロン酸転移酵素については発現変動が見られなかった。第 III 相酵素では²⁷⁾、異物関連トランスポーターである P 糖タンパク質 (ABC トランスポーター) ファミリーの中の *Abcb1b* (MDR1)²⁸⁾ の増加 (2.17 倍) が認められたが、他の関連遺伝子群の発現にはコントロール食群と違いがなかった。

Table 4 Expression change (vs. control group) of hepatic genes involved in xenobiotic metabolism by raw *nagaimo* intake

Gene symbol	Gene name	Fold change
<i>Phase I</i>		
<i>Cyp2b9</i>	Cytochrome p450, family 2, subfamily b, polypeptide 9	1.75
<i>Cyp2c37</i>	Cytochrome p450, family 2, subfamily c, polypeptide 37	0.61
<i>Cyp2c38</i>	CYP2C38	1.61
<i>Cyp2c39</i>	Cytochrome p450, family 2, subfamily c, polypeptide 39	1.51
<i>Phase II</i>		
<i>Gsta2</i>	Glutathione S-transferase, alpha 2	2.46
<i>Gsta4</i>	Glutathione S-transferase, alpha 4	1.75
<i>Gstk1</i>	Glutathione S-transferase kappa 1	1.62
<i>Gstm3</i>	Glutathione S-transferase, mu 3	1.58
<i>Gsto2</i>	Glutathione S-transferase omega 2	1.62

(4) がんおよびアポトーシス関連遺伝子の発現変動
がん抑制遺伝子である *p16*、*p53*、*p107/p130*、*Rb* および *Wt1*²⁹⁾ についてはいずれも発現変動が見られなかった。細胞増殖抑制や細胞死促進に関連した遺伝子群の発現誘導は腫瘍の増殖・生長の抑制につながる事が知られているが、アポトーシス促進遺伝子の *Bok*³⁰⁾ はわずかに発現増加 (1.58 倍) した。同時に、リンパ球などの細胞のアポトーシス死を妨げるミトコンドリア内膜内性タンパク質をコードする *Bcl2a1a* (1.68 倍に増加) の遺伝子³¹⁾ も増加していた。また、発がんを抑制する機序の一つとして、superoxide dismutase (SOD) や catalase、glutathione peroxidase などの抗酸化酵素の活性化が知られているが³²⁾、このうち *Sod2* のみがナガイモ摂取によって 1.69 倍に発現が増加していた。発がん遺伝子の *Alk*、*Ccnd1*、*Thra*、*ErbB2*、*Fos*、*Myc*、*Jun* および *Src*³³⁾ は発現変動していなかったが、*Rras* の発現増加 (1.74 倍) が認められた。cyclooxygenase-2 の抑制も腫瘍増殖抑制に関わるとされているが³⁴⁾、プロスタグランジン合成系ではナガイモ摂取によって prostaglandin D2 synthase (*Ptgds*) のみが顕著に増加 (8.53 倍) していた。

(5) エネルギー代謝や脂質代謝などに関わる遺伝子発現パターン

ナガイモ摂取がエネルギー代謝系に与える影響としては、糖代謝のヘキソースキナーゼをはじめとする解糖系の遺伝子群の発現変動は認められなかった。また、クエン酸回路においてはクエン酸合成酵素などの酵素遺伝子の発現レベルにも違いが見られなかった。脂質代謝では、carnitine palmitoyltransferase 1a (*Cpt1a*) が発現減少 (0.52 倍) していただけ、他の酵素群には顕著な変動は観察されなかった。また、コレステロー

ル合成系の各酵素並びに LDL レセプターの遺伝子についてもコントロール食群との発現レベルの違いは認められなかった。

4. 考察

生体防御系において、微生物感染などに対する迅速な免疫応答として重要な自然免疫は抗原提示細胞によって担われているが、取り込まれた病原体は細胞内で MHC 分子と結合し、抗原提示細胞の膜上に発現され、獲得免疫の活性化を誘導している。本研究では肝臓での遺伝子発現変動を DNA マイクロアレイで分析したが、先に著者らが報告したマイタケと同様に¹²⁾、ナガイモ摂取によって肝臓においても免疫系に関連する遺伝子が数多く発現変動していた。なお、本研究での DNA マイクロアレイ分析では、ナガイモ 20% 添加群とコントロールとして AIN-93 飼料群のマウスからそれぞれ調製した総 RNA を等量ずつプールしたものをを用いているが、先に著者らは本法による遺伝子発現量の変動レベルはリアルタイム RT-PCR 分析による結果と概ね一致することを報告している¹¹⁾。

上述した免疫系に関連する遺伝子の発現変動は、肝臓に含まれるクッパー細胞ならびに摘出した肝臓内に残存していた血液中のマクロファージなどが関係するものと推測されるが、肝臓も免疫応答に関わる器官として重要であることが指摘されている³⁵⁻³⁷⁾。今回、ナガイモ摂取によって、Fc 受容体をコードする 2 種の遺伝子の他に、特に MHC クラス II 経路での抗原プロセッシングと抗原提示に関わる遺伝子発現レベルが高まる事が示された。また、異種たんぱく質を発現する細胞を認識するために発達してきた MHC クラス I 経路は、ウイルスなどの感染性生物や腫瘍抗原を排除するための機構である²¹⁾。今回、この経路では *H2-*

Q1 と *Psme2* 遺伝子の発現増加が観察されたが、後者がコードする PA28 はプロテアソーム活性化因子であり、Murata らは PA28 ががん免疫において必須な役割を担う可能性を示唆している³⁸⁾。

上記の変動パターンは、ナガイモを摂取することによってマクロファージや B 細胞などによる抗原プロセッシングと抗原提示および抗体の産生を活性化させて免疫系を賦活することにつながると推測される。先に Liu らもヤムイモ (*D. alata* と *D. batatas*) の免疫賦活効果を報告しており、彼らは貯蔵タンパク質のジオスコリンや多糖が免疫系の制御に関わることを明らかにしている^{39),40)}。

ナガイモは古くから利用されてきた食材で、その安全性に対する危惧や健康上、問題となる事象は見当たらないが、今回、4 週間に渡って飼料中に生ナガイモを 20% 添加して遺伝子発現変動を評価したところ、幾つかの異物代謝第 I 相酵素遺伝子 (*Cyp2b9*、*Cyp2c38* および *Cyp2c38*) 遺伝子が発現増加した。CYPs は、多種多様な内因性と外因性の化学物質を無毒化するとともに、発がん物質を活性化することが知られている⁴¹⁾。ヒトでは、異物代謝に関わる主な CYPs は hCYP1A2、hCYP2C9、hCYP2C19、hCYP2D6、hCYP2E1 および hCYP3A4 で⁴²⁾、その中で薬物の 90% を代謝するのは hCYP3A4 と hCYP2D6 と考えられている⁴³⁾。マウスで発現上昇した 3 種の *Cyp* 遺伝子は、それらの発現レベルがいずれも軽微 (2 倍以下) であり、また、hCYP3A4 と hCYP2D6 の ortholog ではないことから、ナガイモ摂取による異物代謝第 I 相系への影響はほとんどないと判断される。第 II 相酵素 (解毒酵素) 群は第 I 相代謝物を水溶性の抱合体に変換して排出を促す働きを担っており、glutathione S-transferase (GST) が第 II 相系の重要な酵素である。また、glutathione S-transferase 遺伝子の転写調節を行うことは、酸化作用物質による DNA 損傷から細胞を守る役割に貢献し、がんを予防することにつながると考えられる^{27),44),45)}。本研究において、ナガイモ摂取によって 5 種の GST をコードする遺伝子が発現上昇することが認められ、ナガイモは、緑茶中のエピガロカテキン 3-ガレート (EGCG)⁴⁶⁾ やブロッコリーに含まれるスルホラファン⁴⁷⁾ と同様に、解毒酵素の発現を刺激することが示された。第 III 相酵素群については、変化はほとんどなかったが、唯一、発現上昇が見られた MDR1 は生体異物から生体を防御する役割を果たしていると考えられており、Caco-2 細胞では強心配糖体のジゴキシンによって誘導される²⁸⁾。MDR1 は、抗がん剤や薬物のアスピリンによっても誘導され、各種の薬物処理ストレスに反応して誘導されるストレス

タンパク質として知られている。正常組織では上皮細胞の管腔側膜に局在しており、異物の吸収抑制および排泄の促進に関与していると考えられている。今回、肝臓での MDR1 の発現増加が観察されたが、この変化が体内に混入した異物の排泄促進に寄与するかどうかについては、さらに検討が必要である。

ナガイモの食品機能性としては、血圧上昇抑制効果、大腸腺腫発症軽減作用、グルコース代謝改善作用などが報告されているが^{1-4),7)}、それらの機能発現のメカニズムについては未詳な点が多い。上述したように今回、生ナガイモの摂取によって免疫関連遺伝子群が発現増加することが確認されるとともに、がんの形成を抑える上で有効な異物代謝第 II 相を誘導することが判明したが、今後、それに関与する成分を判定する必要がある。また、本研究から推測されたナガイモの新規機能性を *in vivo* 系で確認することも重要な研究課題である。

本研究は文部科学省平成 17~19 年度都市エリア産学官連携促進事業「十勝エリア」(機能性を重視した十勝産農畜産物の高付加価値化に関する技術開発) の研究課題の一部として行われた。

引用文献

- 1) Nagai, T., Suzuki, N. and Nagashima, T., Autolysate and enzymatic hydrolysates from yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) tuber mucilage tororo have antioxidant and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activities. *J. Food Agric. Environ.*, **5**, 39-43 (2007).
- 2) 木下幹朗, 柚木恵太, 得字圭彦, 川原美香, 大庭潔, 弘中和憲, 大西正男, 1,2-ジメチルヒドラジン投与マウスにおける大腸腺腫発症に与える食餌性ナガイモの効果, 日本食品科学工学会誌, **55**, 270-275 (2008).
- 3) Hashimoto, N., Noda, T., Kim, S.J., Sarker, M. Z., Yamauchi, H., Takigawa, S., Matsuura-Endo, C., Suzuki, T., Han, K.H. and Fukushima, M., Yam contributes to improvement of glucose metabolism in rats. *Plant Foods Hum. Nutr.*, **64**, 193-198 (2009).
- 4) Nishimura, N., Tanabe, H., Yamamoto, T. and Fukushima, M., Raw Chinese yam (*Dioscorea opposita*) promotes cecal fermentation and reduces plasma non-HDL cholesterol concentration in rats. *J. Nutr. Soc. Vitaminol.*, **57**, 340-347 (2011).
- 5) 山崎民子, 荒井克仁, 得字圭彦, 川原美香, 大庭潔, 木下幹朗, 大西正男, 北海道十勝産ナガイモの栄養成分, アミラーゼ力価およびスーパーオキ

- シドアニオン消去活性, 日本食品科学工学会誌, **59**, 538-543 (2012).
- 6) 山崎民子, 荒井克仁, 松下容子, 得字圭彦, 川原美香, 大庭 潔, 木下幹朗, 大西正男, 北海道産ナガイモ凍結乾燥物の脂質組成およびヒト結腸がん細胞増殖抑制作用, 日本食品科学工学会誌, **58**, 567-575 (2011).
- 7) Arai, K., Yamazaki, T., Tokuji, Y., Kawahara, M., Ohba, K., Hironaka, K., Kinoshita, M. and Ohnishi, M., Effects of Chinese yam storage protein on formation of aberrant crypt foci in 1, 2-dimethylhydrazine-treated mice. *J. Food Nutr. Res.*, **52**, 139-145 (2013).
- 8) Miyoshi, N., Nagasawa, T., Mabuchi, R., Yasui, Y., Wakabayashi, K., Tanaka, T. and Ohshima, H., Chemoprevention of azoxymethane/dextran sodium sulfate-induced mouse colon carcinogenesis by freeze-dried yam sanyaku and its constituent diosgenin. *Cancer Prev. Res.*, **4**, 924-934 (2011).
- 9) 得字圭彦, 木下幹郎, 大西正男, 農作物の健康機能性評価, 「バイオチップー実用化ハンドブック」, 金子周一, 堀池靖浩監修, (NTS, 東京), pp. 312-317 (2010).
- 10) Yunoki, K., Sasaki, G., Tokuji, Y., Kinoshita, M., Naito, A., Aida, K. and Ohnishi, M., Effect of dietary wine pomace extract and oleanolic acid on plasma lipids in rats fed high-fat diet and its DNA microarray analysis. *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 12052-12058 (2008).
- 11) Tokuji, Y., Akiyama, K., Yunoki, K., Kinoshita, M., Sasaki, K., Kobayashi, H., Wada, M. and Ohnishi, M., Screening for beneficial effects of oral intake of sweet corn by DNA microarray analysis. *J. Food Sci.*, **74**, 197-203 (2009).
- 12) Sato, M., Tokuji, Y., Yoneyama, S., Fujii-Akiyama, K., Kinoshita, M. and Ohnishi, M., Profiling of hepatic gene expression of mice fed with edible Japanese mushrooms by DNA microarray analysis: comparison among *Pleurotus ostreatus*, *Grifola frondosa*, and *Hypsizygus marmoreus*. *J. Agric. Food Chem.*, **59**, 10723-10731 (2011).
- 13) Takayanagi, K., Morimoto, S., Shirakura, Y., Mukai, K., Sugiyama, T., Tokuji, Y. and Ohnishi, M., Mechanism of visceral fat reduction in Tsumura Suzuki obese, diabetes (TSOD) mice orally administered β -cryptoxanthin from Satsuma mandarin oranges (*Citrus unshiu* Marc). *J. Agric. Food Chem.*, **59**, 12342-12351 (2011).
- 14) Kamakura, M., Maebuchi, M., Ozasa, S., Komori, M., Ogawa, T., Sakaki, T. and Moriyama, T., Influence of royal jelly on mouse hepatic gene expression and safety assessment with a DNA microarray. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **51**, 148-155 (2005).
- 15) Im, R., Mano, H., Nakatani, S., Shimizu, J. and Wada, M., Safety evaluation of the aqueous extract Kothala himbutu (*Salacia reticulata*) stem in the hepatic gene expression profile of normal mice using DNA microarrays. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **72**, 3075-3083 (2008).
- 16) Nimmerjahn, F. and Ravetch, J.V., Fc-receptors as regulators of immunity. *Adv. Immunol.*, **96**, 179-204 (2007).
- 17) Durand, B., Sperisen, P., Emery, P., Barras, E., Zufferey, M., Mach, B. and Reith, W., RFXAP, a novel subunit of the RFX DNA binding complex is mutated in MHC class II deficiency. *EMBO J.*, **16**, 1045-1055 (1997).
- 18) Pieters, J., MHC class II restricted antigen presentation. *Curr. Opin. Immunol.*, **9**, 89-96 (1997).
- 19) Stables, M. J., Shah, S., Camon, E. B., Lovering, R. C., Newson, J., Bystrom, J., Farrow, S. and Gilroy, D.W., Transcriptomic analyses of murine resolution-phase macrophages. *Blood*, **118**, e192-208 (2011).
- 20) Phan, U.T., Arunachalam, B. and Cresswell, P., Gamma-interferon-inducible lysosomal thiol reductase (GILT). Maturation, activity, and mechanism of action. *J. Biol. Chem.*, **275**, 25907-25914 (2000).
- 21) 村田茂穂, 哺乳類におけるプロテアソームの多様性と意義, 生化学, **80**, 719-732 (2008).
- 22) de Graaf, N., van Helden, M.J., Textoris-Taube, K., Chiba, T., Topham, D.J., Kloetzel, P. M., Zaiss, D.M. and Sijts, A.J., PA28 and the proteasome immunosubunits play a central and independent role in the production of MHC class I-binding peptides *in vivo*. *Eur. J. Immunol.*, **41**, 926-935 (2011).
- 23) Zeng, L., Sullivan, L.C., Vivian, J.P., Walpole, N.G., Harpur, C.M., Rossjohn, J., Clements, C.S. and Brooks, A.G., A structural basis for antigen presentation by the MHC class Ib molecule, Qa-1^b. *J. Immunol.*, **188**, 302-310 (2012).
- 24) Hendershot, L.M., Valentine, V.A., Lee, A.S., Morris, S.W. and Shapiro, D.N., Localization of the gene encoding human BiP/GRP78, the endoplasmic reticulum cognate of the HSP70 family, to chromosome 9q34. *Genomics*, **20**, 281-281 (1994).
- 25) Laing, K.J. and Secombes, C.J., Chemokines. *Dev. Comp. Immunol.*, **28**, 443-460 (2004).
- 26) Guengerich, F.P. and Shimada, T., Oxidation of toxic and carcinogenic chemicals by human cytochrome P-450 enzymes. *Chem. Res. Tox-*

- icol.*, **4**, 391-407 (1991).
- 27) Veeriah, S., Miene, C., Habermann, N., Hofmann, T., Klenow, S., Sauer, J., Böhmer, F., Wölfl, S. and Pool-Zobel, B.L., Apple polyphenols modulate expression of selected genes related to toxicological defence and stress response in human colon adenoma cells. *Int. J. Cancer*, **122**, 2647-2655 (2008).
- 28) Takara, K., Takagi, K., Tsujimoto, M., Ohnishi, N. and Yokoyama, T., Digoxin up-regulates multidrug resistance transporter (MDR1) mRNA and simultaneously down-regulates steroid xenobiotic receptor mRNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **306**, 116-120 (2003).
- 29) Sherr, C. J., Principles of tumor suppression. *Cell*, **116**, 235-246 (2004).
- 30) Rodriguez, J.M., Glezak, M.A., Ma, Y. and Cress, W., Bok, Bcl-2 related ovarian killer, is cell cycle regulated and sensitizes to stress-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.*, **281**, 22729-22735 (2006).
- 31) Reed, J.C., Miyashita, T., Takayama, S., Wang, H.G., Sato, T., Krajewski, S., Aimé-Sempé, C., Bodrug, S., Kitada, S. and Hanada, M., BCL-2 family proteins: regulators of cell death involved in the pathogenesis of cancer and resistance to therapy. *J. Cell. Biochem.*, **60**, 23-32 (1996).
- 32) Khan, M.A., Tania, M., Zhang, D.Z. and Chen, H.C., Antioxidant enzymes and cancer. *Chin. J. Cancer Res.*, **22**, 87-92 (2010).
- 33) Croce, C.M., Oncogenes and cancer. *N. Engl. J. Med.*, **358**, 502-511 (2008).
- 34) Wu, W.K., Sung, J.J., Lee, C.W., Yu, J. and Cho, C.H., Cyclooxygenase-2 in tumorigenesis of gastrointestinal cancers: an update on the molecular mechanisms. *Cancer Lett.*, **295**, 7-16 (2010).
- 35) Tacke, F., Luedde, T. and Trautwein, C., Inflammatory pathways in liver homeostasis and liver injury. *Clinic. Rev. Allerg. Immunol.*, **36**, 4-12 (2009).
- 36) Crispe, I.N., Liver antigen-presenting cells, *J. Hepatol.*, **54**, 357-365 (2011).
- 37) Kowalewska, P.M., Pritch, A. and Fox-Robichaud, A.E., Innate immunity of the liver microcirculation. *Cell Tissue Res.*, **343**, 85-96 (2011).
- 38) Murata, S., Udono, H., Tanahashi, N., Hamada, N., Watanabe, K., Adachi, K., Yamano, T., Yui, K., Kobayashi, N., Kasahara, M., Tanaka, K. and Chiba, T., Immunoproteasome assembly and antigen presentation in mice lacking both PA28 α and PA28 β . *EMBO J.*, **20**, 5898-5907 (2001).
- 39) Liu, Y.W., Liu, J.C., Huang, C.Y., Wang, C.K., Shang, H.F. and Hou, W.C., Effects of oral administration of yam tuber storage protein, dioscorin, to BALB/c mice for 21-days on immune responses. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 9274-9279 (2009).
- 40) Liu, J.Y., Yang, F.L., Lu, C.P., Yang, Y.L., Wen, C.L., Hua, K.F. and Wu, S.H., Polysaccharides from *Dioscorea batatas* induce tumor necrosis factor- α secretion via Toll-like receptor 4-mediated protein kinase signaling pathway. *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 9892-9898 (2008).
- 41) Guengerich, F.P. and Shimada, T., Oxidation of toxic and carcinogenic chemicals by human cytochrome P-450 enzymes. *Chem. Res. Toxicol.*, **4**, 391-407 (1991).
- 42) Lynch, T. and Price, A., The effect of cytochrome P450 metabolism on drug response, interactions, and adverse effects. *Am. Fam. Physician.*, **76**, 391-396 (2007).
- 43) Faber, M. S., Jetter, A. and Fuhr, U., Assessment of CYP1A2 activity in clinical practice: why, how, and when? *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, **97**, 125-134 (2005).
- 44) Pecorino, L., ペコリーノ がんの分子生物学, (メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京), pp.219-242 (2010).
- 45) Pool-Zobel, B., Veeriah, S. and Böhmer, F.D., Modulation of xenobiotic metabolising enzymes by anticarcinogens — focus on glutathione S-transferases and their role as targets of dietary chemoprevention in colorectal carcinogenesis. *Mutat. Res.*, **591**, 74-92 (2005).
- 46) Artali, R., Beretta, G., Morazzoni, P., Bombardelli, E. and Meneghetti, F., Green tea catechins in chemoprevention of cancer: a molecular docking investigation into their interaction with glutathione S-transferase (GST P1-1). *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **24**, 287-295 (2009).
- 47) Veeranki, O.L., Bhattacharya, A., Marshall, J. R. and Zhang, Y., Organ-specific exposure and response to sulforaphane, a key chemopreventive ingredient in broccoli: implications for cancer prevention. *Br. J. Nutr.*, **109**, 25-32 (2013).

Effects of Oral Intake of Raw Chinese Yam Tubers on Gene Expression in Mice Liver: DNA Microarray Analysis

Tamiko YAMAZAKI

(Obihiro Otani Junior College)

Yoshihiko TOKUJI

(Department of Food Science, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine)

Mayumi SATO

(Forest Products Research Institute, Hokkaido Research Organization)

Mika KAWAHARA

(Hokkaido Tokachi Regional Food Processing Technology Center)

Kiyoshi OHBA

(Hokkaido Tokachi Regional Food Processing Technology Center)

Mikio KINOSHITA

(Department of Food Science, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine)

Masao OHNISHI

(Department of Food Science and Human Nutrition, Faculty of Human Life Sciences, Fuji Women's University)

To estimate the beneficial effects of the dietary intake of Chinese yam, *nagaimo* (*Dioscorea opposita* Thunb.), normal mice were fed a diet containing 20% of the raw freeze-dried tuber powder for 4 weeks. DNA microarray analysis of the liver revealed the notable expression pattern of genes related to the immune system. In addition to *Fcer1g* and *Fcgr2b* encoding the Fc receptor, several genes involved in antigen processing and presentation by the MHC I and II pathways were up-regulated, which were considered to promote the immune response. Moreover, the enhanced gene expression of Phase II xenobiotic metabolizing enzymes (e.g., glutathione S-transferase) was also observed. It was, therefore, assumed that the consumption of raw *nagaimo* would favorably modulate the biotransformation of noxious substances such as carcinogens to readily excrete as the water-soluble form. Compared to the control group, no significant changes in genes involved in glucose and lipid metabolism were found in the *nagaimo*-fed group.

